

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



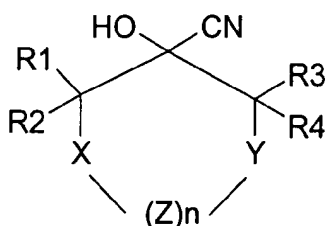
(11)

EP 1 323 830 A2

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG(43) Veröffentlichungstag:
02.07.2003 Patentblatt 2003/27(51) Int Cl.7: **C12P 17/00**, C12P 17/04,
C12P 17/06
// C12N9/88(21) Anmeldenummer: **02026848.8**(22) Anmeldetag: **29.11.2002**(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR
IE IT LI LU MC NL PT SE SK TR**
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI(30) Priorität: **27.12.2001 AT 20332001**(71) Anmelder: **DSM Fine Chemicals Austria Nfg
GmbH & Co KG
4021 Linz (AT)**(72) Erfinder:
• **Pöchlauer, Peter
4040 Linz (AT)**
• **Skranc, Wolfgang
1220 Wien (AT)**

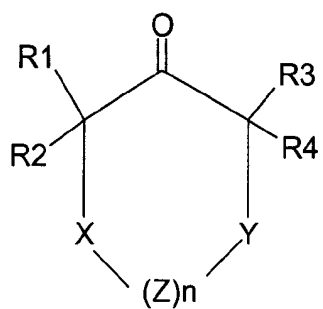
- **Mayrhofer, Herbert
4210 Engerwitzdorf (AT)**
- **Wirth, Irma
4470 Enns (AT)**
- **Neuhofer, Rudolf
4210 Mittertreffling (AT)**
- **Griengl, Herfried
8047 Graz (AT)**
- **Fechter, Martin
8044 Graz (AT)**

(74) Vertreter: **Lindinger, Ingrid
DSM Fine Chemicals,
Austria Nfg GmbH & Co KG,
CEL/Patente,
St.-Peter-Strasse 25,
P.O. Box 933
4021 Linz (AT)**(54) **Verfahren zur Herstellung von heterocyclischen (R)-und (S)-Cyanhydrinen**(57) Verfahren zur Herstellung von enantiomeren-
angereicherten heterocyclischen (R)-und (S)-Cyanhy-
drinen der Formel (I),

in der R1, R2, R3, R4 unabhängig voneinander H, einen gegebenenfalls substituierten C₁-C₂₄-Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylrest, wobei ein oder mehrere C-Atome in der Kette durch ein Sauerstoffatom, ein Stickstoffatom, ein Schwefelatom, eine SO- oder eine SO₂-Gruppe ersetzt sein können, einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Heteroarylrest oder heterocyclischen Rest oder Halogen, Hydroxy, NR₅R₆, Acetyl, Oxo, C₁-C₆-Carbalkoxy, C₁-C₆-Carbalkoxyamino, COOR₇, Cyano, Amid, Benzoylamino oder NO₂ bedeuten, R₅ und R₆ H, C₁-C₆-Alkylrest, Phenylrest, Benzylrest oder COOR₇ bedeuten oder gemeinsam einen C₂-C₈-

Alkyl- oder -Heteroalkylrest bilden, R₇ H oder C₁-C₆-Alkyl bedeutet, n gleich 0, 1, 2 oder 3 ist, X, Y und z ein gegebenenfalls substituiertes C-Atom oder ein Rest aus der Gruppe N, O, S, oder NR₅R₆, wobei R₅ und R₆ wie oben definiert sind, SO oder SO₂ sein kann und mindestens einer der Reste X, Y und Z kein C-Atom ist, wobei die Verbindungen der Formel (I) eine oder mehrere Doppelbindungen im Ring aufweisen können, mit der Maßgabe, dass im 5-er Ring die Doppelbindung nicht in Konjugation zur -C(OH)CN-Gruppe steht, und/oder anelliert, und/oder überbrückt sein können, durch Umsetzung eines Ketons der Formel (II),

EP 1 323 830 A2



in der R1, R2, R3, R4, X, Y, Z und n obige Bedeutung haben, in Gegenwart eines Cyanidgruppendonors mit einer (R)- oder (S)-Hydroxynitrilase im organischen, wässrigen oder Zweiphasensystem oder in Emulsion.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein enzymkatalysiertes Verfahren zur Herstellung von enantiomerenangereicherten heterocyclischen (R)- und (S)-Cyanhydrinen unter Verwendung von (R)- oder (S)-Hydroxynitrilase (HNL) aus den korrespondierenden heterocyclischen Ketonen sowie deren weitere Umsetzung zu den korrespondierenden Säuren, Estern oder Amiden.

[0002] Cyanhydrine sind zur Synthese von alpha-Hydroxysäuren, alpha-Hydroxyketonen, beta-Aminoalkoholen, die zur Gewinnung biologisch wirksamer Stoffe, z. B. pharmazeutischer Wirkstoffe, Vitamine oder auch pyrethroider Verbindungen Verwendung finden, von Bedeutung.

[0003] Die Herstellung dieser Cyanhydrine erfolgt durch Addition von Blausäure an die Carbonylgruppe eines Ketons oder Aldehyds.

Aus der Literatur sind bereits mehrere Verfahrensvarianten bekannt, die die Herstellung von (R)- und/oder (S)-Cyanhydrinen aus aliphatischen, aromatischen oder heteroaromatischen Aldehyden oder auch aus aliphatischen oder aromatischen Ketonen beschreiben.

So wird in EP-A-0 326 063 ein enzymatisches Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven (R)- oder (S)-Cyanhydrinen durch Umsetzung von aliphatischen, aromatischen oder heteroaromatischen Aldehyden oder Ketonen mit Blausäure in Gegenwart von (R)-Oxynitrilase (EC 4.1.2.10) aus *Prunus amygdalus* oder Oxynitrilase (EC 4.1.2.11) aus *Sorghum bicolor* beansprucht, Beispiele für Ketone, insbesondere von heterocyclischen Ketonen, sind jedoch nicht beschrieben. EP 0 632 130 beschreibt weiters ein Verfahren, bei welchem aliphatische Aldehyde oder unsymmetrische aliphatische Ketone mit Blausäure und Oxynitrilase aus *Hevea brasiliensis* stereospezifisch zu (S)-Cyanhydrinen umgesetzt werden. Heterocyclische Ketone sind nicht enthalten.

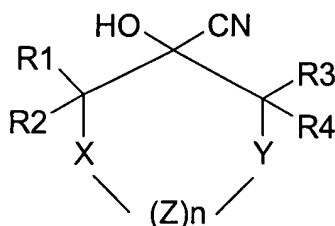
[0004] In EP 0 927 766 ist ein enzymatisches Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven (S)-Cyanhydrinen aus aliphatischen, aromatischen oder heteroaromatischen Aldehyden oder Ketonen in Emulsion beschrieben. Als heteroaromatisches Keton wird dabei lediglich Indolylaceton angeführt. Ketone, deren Ketogruppe Bestandteil des Heterocyclus ist, sind aus EP 0 927 766 nicht zu entnehmen.

Cyanhydrine aus heterocyclischen Ketonen, deren Ketogruppe Bestandteil des Heterocyclus ist, wie etwa 7-Oxabicyclo [2.2.1]hept-2-en-derivate, wurden bisher beispielsweise durch ZnI_2 -katalysierte Diels-Alder-Addition von Furan und Acetoxyacetylnitril, wie in *Helv. Chim. Acta* (1984), 67(6), 1612 - 1615 beschrieben, hergestellt. Optisch aktive Cyanhydrine wurden dabei mittels Racemattrennung über einen Cyanhydrin-Brucin-Komplex erhalten. Eine weitere Möglichkeit stellt die Herstellung von Cyanofuranonen, beispielsweise aus $MeCH(OH)CO_2Et$ und Crotonnitril in THF und in Gegenwart von NaH, wie aus US 4,208,338 bekannt, dar.

[0005] Aufgabe der Erfindung war es, ein Verfahren zu finden, das die Herstellung von enantiomerenangereicherten heterocyclischen (R)- und (S)-Cyanhydrinen aus den korrespondierenden heterocyclischen Ketonen auf einfache Weise, in hohen Ausbeuten und mit hoher Enantiomerenreinheit ermöglicht.

[0006] Unerwarteterweise konnte diese Aufgabe durch die (R)- oder (S)-HNL-katalysierte Umsetzung von heterocyclischen Ketonen gelöst werden.

[0007] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist demnach ein Verfahren zur Herstellung von enantiomerenangereicherten heterocyclischen (R)- und (S)-Cyanhydrinen der Formel (I),



[0008] in der R1, R2, R3, R4 unabhängig voneinander H, einen gegebenenfalls ein- oder mehrfach durch unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituierten, linearen, verzweigten oder cyclischen C_1 - C_{24} -Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylrest, wobei ein oder mehrere C-Atome in der Kette durch ein Sauerstoffatom, ein Stickstoffatom, ein Schwefelatom, eine SO- oder eine SO_2 -Gruppe ersetzt sein können, einen gegebenenfalls ein- oder mehrfach durch unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituierten Aryl- oder Heteroarylrest oder heterocyclischen Rest oder Halogen, Hydroxy, NR5R6, Acetyl, Oxo, C_1 - C_6 -Carbalkoxy, C_1 - C_6 -Carbalkoxyamino, COOR7, Cyano, Amid, Benzoylamino oder NO_2 bedeuten,

R5 und R6 unabhängig voneinander H, linearer, verzweigter oder cyclischer C_1 - C_6 -Alkylrest, Phenylrest, Benzylrest, COOR7 sein können oder gemeinsam einen C_2 - C_8 -Alkyl- oder -Heteroalkylrest bilden,

R7 gleich H oder C₁-C₆-Alkyl bedeutet,

X und Y unabhängig voneinander ein gegebenenfalls ein- oder zweifach durch unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituiertes C-Atom oder ein Rest aus der Gruppe N, O, S, oder NR₅R₆, wobei R₅ und R₆ wie oben definiert sind, SO oder SO₂ sein kann,

n gleich 0, 1, 2 oder 3 ist,

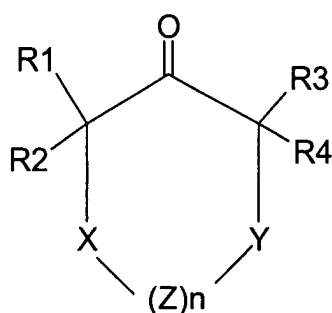
Z ein gegebenenfalls ein- oder zweifach durch unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituiertes C-Atom, oder ein Rest aus der Gruppe N, O, S, oder NR₅R₆, wobei R₅ und R₆ wie oben definiert sind, SO oder SO₂ sein kann,

und mindestens einer der Reste X, Y und Z kein C-Atom ist,

wobei die Verbindungen der Formel (I), in Abhängigkeit von der Ringgröße, eine oder mehrere Doppelbindungen im Ring aufweisen können, mit der Maßgabe, dass im 5-er Ring die Doppelbindung nicht in Konjugation zur -C(OH)CN-Gruppe steht,

und/oder ein- oder mehrfach durch 5-er, 6-er oder 7-er Ringe mit 0 bis 3 Heteroatomen anelliert sein können,

und/oder durch einen linearen oder verzweigten C₁-C₆-Alkylrest, der in der Alkylkette durch ein oder mehrere Heteroatome unterbrochen sein kann und/oder eine Doppelbindung aufweisen kann, überbrückt sein können, das dadurch gekennzeichnet ist, dass Ketone der Formel (II),



in der R₁, R₂, R₃, R₄, X, Y, Z und n obige Bedeutung haben, in Gegenwart eines Cyanidgruppendonors mit einer (R)- oder (S)-Hydroxynitrilase im organischen, wässrigen oder Zweiphasensystem oder in Emulsion zu den gewünschten (R)- oder (S)-Cyanhydrinen umgesetzt werden.

[0009] In der Formel (I) und in der Formel (II) bedeuten R₁, R₂, R₃, R₄ unabhängig voneinander H oder einen gegebenenfalls ein- oder mehrfach durch unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituierten, linearen, verzweigten oder cyclischen C₁-C₂₄-Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylrest.

Unter Alkyl, Alkenyl oder Alkynyl sind dabei gesättigte bzw. ein- oder mehrfach ungesättigte, lineare, verzweigte oder cyclische, primäre, sekundäre oder tertiäre Hydrocarbonreste zu verstehen. Dies sind C₁-C₂₄-Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylreste, wie etwa Methyl, Ethyl, Vinyl, Ethinyl, Propyl, i-Propyl, Allyl, Propenyl, 1-Methylcyclopropenyl, Butyl, i-Butyl, t-Butyl, 1,3-Butadienyl, 2-Methyl-1,3-butadienyl, Pentyl, Cyclopentyl, i-Pentyl, neo-Pentyl, 2-Pentynyl, 1,3-Pentadienyl, Hexyl, i-Hexyl, 1,2-Hexadienyl, Cyclohexyl, Cyclohexylmethyl, 3-Methylpentyl, 2,2-Dimethylbutyl, 2,3-Dimethylbutyl, Octyl, i-Octyl, Cyclooctyl, 2,6-Dimethyloctan, Decyl, Cyclodecyl, Dodecyl, Cyclododecyl, 2,6,10-Trimethyldodecyl, u.s.w.

Bevorzugt sind dabei C₁-C₁₂-Alkylreste sowie C₂-C₁₂-Alkenyl- oder Alkynylreste, und besonders bevorzugt C₂-C₈-Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylreste.

[0010] Bei diesen Resten kann ein oder mehrere C-Atome in der Kette durch ein Sauerstoffatom, ein Stickstoffatom, ein Schwefelatom oder eine SO- oder SO₂-Gruppe ersetzt sein, sodass Ether, Amide, Amine, Imine, Thioether, Sulfide und Sulfone erhalten werden.

Beispiele dafür sind 2-Methoxypropyl, 2-Methoxybutyl, Oxiranyl, Tetrahydrofuryl, Dioxanyl, 2-Ethoxymethyl, 2-Propoxymethyl, N',N'-Dimethylhydrazino, Ethylthiomethyl, 1,1-Dioxotetrahydrothiophenyl, Methylsulfinylmethyl, Methylsulfonylmethyl, Thiiranyl u.s.w.

[0011] Als Substituenten, die unter den Reaktionsbedingungen inert sind, eignen sich beispielsweise folgende Gruppen:

C₁-C₂₀-Alkoxy- oder Alkylalkoxy- oder Aryloxygruppen, wie etwa Methoxy-, Ethoxy-, Butoxy-, Hexoxy- Methoxymethyl-, Methoxyethyl-, Ethoxymethyl-, Ethoxyethyl-, Phenyl-, u.s.w.;

Nitro-, Halogen-, Hydroxyl-, Oxo-, CN-, CONH₂-, Carboxyl-, Carbonsäureester oder Carbonsäureamide, primäre, sekundäre oder tertiäre Amino-Gruppen, SO₃H-Gruppen, gegebenenfalls ein- oder mehrfach durch Halogen, Hy-

droxy, C₁-C₄-Alkyl oder Alkoxy substituiertes Phenyl u.s.w.

Bevorzugte Substituenten sind C₁-C₆-Alkoxy, C₁-C₁₂-Alkylalkoxy, C₁-C₂₀-Aryloxy, Halogen, Hydroxy, Oxo, Carboxyl, gegebenenfalls ein- oder zweifach durch Halogen, Hydroxy, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy substituiertes Phenyl.

R₁, R₂, R₃, R₄ können aber auch einen gegebenenfalls ein- oder mehrfach durch unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituierten Aryl- oder Heteroarylrest oder heterocyclischen Rest bedeuten.

Unter Aryl sind bevorzugt C₆-C₂₀-Arylgruppen zu verstehen, wie etwa Phenyl, Biphenyl, Naphthyl, Indenyl, Fluorenyl u.s.w.

Die Arylgruppe kann dabei gegebenenfalls durch oben angeführte unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten ein- oder mehrfach substituiert sein.

[0012] Unter Heteroaryl oder Heterocyclus sind cyclische Reste zu verstehen, die zumindest ein O-, S- oder N-Atom im Ring enthalten. Dies sind beispielsweise Furyl, Thiophenyl, Pyridyl, Pyrimidyl, Imidazolyl, Tetrazolyl, Pyrazinyl, Benzofuranlyl, Chinolyl, Isochinolyl, Isobenzofuryl, Pyrazolyl, Indolyl, Isoindolyl, Benzoimidazolyl, Purinyl, Carbazolyl, Oxazolyl, Isoxazolyl, Pyrrolyl, Chinazolyl, Pyridazinyl, Phthalazinyl, Morpholinyl u.s.w.

Funktionelle O- oder N-Gruppen können dabei nötigenfalls geschützt werden.

Die Heteroarylgruppe bzw. der Heterocyclus können dabei gegebenenfalls ein- oder mehrfach durch die bereits oben angeführten Substituenten substituiert sein.

Weiters können R₁, R₂, R₃, R₄ auch Halogen, wie etwa Fluor oder Chlor, Bor, Hydroxy, NR₅R₆, Acetyl, Oxo, C₁-C₆-Carbalkoxy, COOR₇, Cyano, NO₂, Amid oder Benzoylamino, bedeuten.

R₅ und R₆ bedeuten dabei unabhängig voneinander H, einen linearen, verzweigten oder cyclischen C₁-C₆-Alkylrest, Phenylrest, Benzylrest oder COOR₇ oder bilden gemeinsam einen C₂-C₈-Alkyl- oder -Heteroalkylrest.

R₇ bedeutet H oder C₁-C₆-Alkyl.

[0013] Bevorzugt bedeuten R₁, R₂, R₃ und R₄ unabhängig voneinander H, einen gesättigten oder einfach ungesättigten, linearen, verzweigten oder cyclischen C₁-C₁₂-Alkylrest, in der ein C-Atom in der Kette durch ein Sauerstoffatom, ein Stickstoffatom, oder ein Schwefelatom ersetzt sein kann, einen Phenyl, Biphenyl oder Naphthylrest, oder Halogen, Hydroxy, Oxo, C₁-C₆-Carbalkoxy, C₁-C₆-Carbalkoxyamino, NR₅R₆, Acetyl, COOR₇, Cyano, Amid, Benzoylamino oder NO₂.

R₅ und R₆ unabhängig voneinander H oder einen linearen, cyclischen oder verzweigten C₁-C₆-Alkylrest sein können oder gemeinsam einen C₂-C₈-Alkylrest bilden,

und R₇ gleich H oder C₁-C₆-Alkyl.

[0014] n ist gleich 0, 1, 2 oder 3, wodurch 5-er, 6-er, 7-er oder 8-er Ringe erhalten werden. Bevorzugt ist n gleich 0, 1 oder 2 und besonders bevorzugt ist n gleich 0 oder 1.

[0015] X, Y und Z können unabhängig voneinander ein gegebenenfalls ein- oder zweifach durch unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituiertes C-Atom sein, oder einen Rest aus der Gruppe N, O, S, oder NR₅R₆, wobei R₅ und R₆ wie oben definiert sind, SO oder SO₂ bedeuten, wobei mindestens einer der Reste X, Y und Z kein C-Atom ist. Bevorzugt bedeutet nur einer oder zwei der Reste X, Y und Z, besonders bevorzugt nur einer der Reste X, Y und Z, einen Rest aus der Gruppe N, O, S, NR₅R₆, SO oder SO₂.

Als Substituenten, die unter den Reaktionsbedingungen inert sind, eignen sich wiederum die bereits oben angeführten Substituenten.

[0016] Bevorzugt bedeuten X, Y und Z ein gegebenenfalls ein- oder zweifach durch C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₆-Alkoxy, C₁-C₁₂-Alkylalkoxy, C₁-C₂₀-Aryloxy, Halogen, Hydroxy, Oxo, Carboxyl, gegebenenfalls ein- oder zweifach durch Halogen, Hydroxy, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy substituiertes Phenyl substituiertes C-Atom, oder einen Rest aus der Gruppe N, O, S oder NR₅R₆, bedeuten, wobei einer oder zwei der Reste X, Y oder Z kein C-Atom ist.

[0017] Die Verbindungen der Formel (I) und der Formel (II) können dabei in Abhängigkeit von der Ringgröße eine oder mehrere Doppelbindungen im Ring aufweisen, wobei im 5-er Ring die Doppelbindung nicht in Konjugation zur -C(OH)CN-Gruppe stehen darf.

Bevorzugt enthalten 5-er Ringe keine Doppelbindung im Ring. 6-er Ringe enthalten bevorzugt keine oder höchstens eine Doppelbindung im Ring, während in 7-er und 8-er Ringen keine bis zu zwei Doppelbindungen bevorzugt sind.

[0018] Die Verbindungen der Formel (I) und der Formel (II) können auch, wiederum in Abhängigkeit von der Ringgröße, ein- oder mehrfach durch 5-er, 6-er oder 7-er Ringe mit 0 bis 3, bevorzugt mit 0 bis 1 Heteroatomen, anelliert sein. Bevorzugt sind die Verbindungen der Formel (I) nicht anelliert oder durch einen 5- oder 6-gliedrigen Ring anelliert.

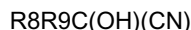
[0019] Weiters können die Verbindungen der Formel (I) und der Formel (II) durch einen linearen oder verzweigten C₁-C₆-Alkylrest überbrückt sein. Die Alkylkette kann dabei auch eine Doppelbindung aufweisen und/oder durch ein oder mehrere Heteroatome unterbrochen sein. Bevorzugt ist die Kette durch kein oder höchstens ein Heteroatom unterbrochen.

[0020] Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren werden Ketone der Formel (II), die zum Teil käuflich erwerbbar sind, oder beispielsweise analog J. Org. Chem., 1970, 35, 898 - 902; oder laut Literatur Synthesis, 1978, 368 - 370, hergestellt werden können, zu enantiomerenangereicherten heterocyclischen (R)- und (S)-Cyanhydrinen umgesetzt.

[0021] Die entsprechenden Ketone der Formel (II) werden dabei in Gegenwart eines Cyanidgruppennonors mit einer (R)- oder (S)-Hydroxynitrillyase umgesetzt.

[0022] Als Cyanidgruppennonor kommen Blausäure, Alkali-Cyanide oder Cyanhydrine der allgemeinen Formel (III)

5



in Betracht. In der Formel (III) bedeuten R₈ und R₉ unabhängig voneinander Wasserstoff oder eine unsubstituierte Kohlenwasserstoffgruppe, oder R₈ und R₉ gemeinsam eine Alkylengruppe mit 4 oder 5 C-Atomen, wobei R₈ und R₉ nicht gleichzeitig Wasserstoff bedeuten. Die Kohlenwasserstoffgruppen sind aliphatische oder aromatische, bevorzugt aliphatische, Gruppen. Bevorzugt bedeuten R₈ und R₉ Alkylgruppen mit 1 - 6 C-Atomen, ganz bevorzugt ist Acetocyanhydrin als Cyanidgruppennonor der Formel (III).

Die Herstellung des Cyanidgruppennonors kann nach bekannten Verfahren erfolgen. Cyanhydrine, insbesondere Acetocyanhydrin, sind auch käuflich zu erwerben.

[0023] Bevorzugt wird Blausäure, KCN, NaCN, oder Acetocyanhydrin, besonders bevorzugt Blausäure als Cyanidgruppennonor eingesetzt.

[0024] Die Blausäure kann dabei auch erst kurz vor der Reaktion aus einem ihrer Salze, wie etwa NaCN oder KCN, freigesetzt und in Substanz oder in gelöster Form dem Reaktionsgemisch zugegeben werden.

[0025] Der Cyanidgruppennonor wird dabei in einem molaren Verhältnis zur Verbindung der Formel (II) von 0,5:1 bis 7:1, bevorzugt von 0,8:1 bis 6:1 und besonders bevorzugt von 1:1 bis 5:1 eingesetzt.

[0026] Die Umsetzung kann im organischen, wässrigen oder Zweiphasensystem oder in Emulsion durchgeführt werden.

[0027] Als organisches Verdünnungsmittel können mit Wasser nicht oder geringfügig mischbare aliphatische oder aromatische Kohlenwasserstoffe, die gegebenenfalls halogeniert sind, Alkohole, Ether oder Ester oder Gemische davon verwendet werden. Bevorzugt werden t-Butylmethylether, Diisopropylether, Dibutylether und Ethylacetat oder deren Gemische eingesetzt.

Bei der enantioselektiven Umsetzung wird als wässriges System eine wässrige, die entsprechende HNL-enthaltende Lösung oder Pufferlösung verwendet. Beispiele dafür sind Acetatpuffer-, Boratpuffer-, Phthalatpuffer-, Citratpuffer- oder Phosphatpufferlösung oder Gemische davon.

[0028] Die HNLs können dabei entweder als solche oder immobilisiert im organischen Verdünnungsmittel vorliegen, die Umsetzung kann jedoch auch in einem Zweiphasensystem oder in Emulsion mit nicht-immobilisierter HNL erfolgen.

[0029] Als HNLs eignen sich sowohl native als auch rekombinante (R)- und (S)-HNLs.

[0030] Als (S)-Hydroxynitrillyase kommen native (S)-Hydroxynitrillyasen, z. B. aus Maniok und Hevea brasiliensis, sowie rekombinante (S)-HNL in Frage. Bevorzugt wird als native HNL jene aus Hevea brasiliensis verwendet. Geeignete rekombinante (S)-HNL wird beispielsweise aus gentechnisch modifizierten Mikroorganismen, wie etwa Pichia pastoris; E. coli oder Saccharomyces cerevisiae, erhalten.

Bevorzugt wird rekombinante (S)-HNL aus Pichia pastoris oder E. coli eingesetzt.

[0031] Als (R)-HNL kommen beispielsweise (R)-Hydroxynitrillyasen aus Prunus amygdalus, Prunus laurocerasus oder Prunus serotina, oder rekombinante (R)-HNL in Frage. Bevorzugt wird (R)-Hydroxynitrillyase aus Prunus amygdalus oder eine rekombinante (R)-HNL verwendet.

[0032] Geeignete (R)- und (S)-HNLs sind beispielsweise aus WO 97/03204, EP 0 969 095; EP 0 951 561, EP 0 927 766, EP 0 632 130, EP 0547 655, EP 0 326 063, WO 01/44487 u.s.w. bekannt.

[0033] Pro g Keton werden etwa 0,1 bis 20 g Verdünnungsmittel und 10 bis 50 000 IU, bevorzugt 1 000 bis 40 000 IU, Aktivität Hydroxynitrillyase zugesetzt.

[0034] Die Reaktionsmischung wird bei Temperaturen von etwa - 10 °C bis zur Deaktivierungstemperatur der Hydroxynitrillyase, bevorzugt bei - 5 bis + 30 °C geschüttelt oder gerührt, oder bei Umsetzung in Emulsion bei Temperaturen von 0 °C bis etwa + 30 °C derart gerührt, dass eine Emulsion entsteht.

[0035] Zur Aufarbeitung des Reaktionsgemisches und zur Isolierung des gebildeten Cyanhydrines werden im Falle der Reaktion in Emulsion übliche Techniken, welche zunächst die Emulsion brechen, wie etwa Filtration, Zentrifugation oder Koaleszierung eingesetzt. Anschließend werden die sich bildenden Phasen gegebenenfalls unter Zugabe von Demulgatoren aufgetrennt und die produktthaltige Phase aufgearbeitet.

[0036] Zur Gewinnung des entsprechenden Cyanhydrines werden dabei je nach Endprodukt bekannte Techniken wie Destillation, Extraktion oder Kristallisation angewandt. Die so gewonnenen Cyanhydrine können gegebenenfalls durch Zugabe einer Säure vor der Weiterverarbeitung stabilisiert werden.

[0037] Bei der Extraktion werden dabei organische Lösungsmittel, die mit Wasser nicht mischbar sind, wie etwa aliphatische oder aromatische gegebenenfalls halogenierte Kohlenwasserstoffe, z. B. Pentan, Hexan, Benzol, Toluol, Methylenchlorid, Chloroform, Chlorbenezole, Ether wie etwa t-Butylmethylether, Diethylether, Diisopropylether oder Ester, beispielsweise Essigsäureethylester oder Mischungen solcher Lösungsmittel, verwendet.

Sollte die Reinheit des extrahierten Produktes nicht ausreichend sein, kann eine Reinigungsoperation angeschlossen werden. Die Reinigung kann durch eine bekannte Methode erfolgen und gelingt am besten chromatographisch.

[0038] Die erfindungsgemäß hergestellten (R)- oder (S)-Cyanhydrine der Formel (I) werden dabei in hohen Ausbeuten und mit einer hohen optischen Reinheit erhalten.

[0039] Die Cyanhydrine der Formel (I) können gewünschtenfalls noch weiter verarbeitet werden, wodurch die korrespondierenden Hydroxycarbonsäuren, deren Ester, sowie korrespondierende Ether oder Amide erhalten werden können.

Das entsprechende (R)- und (S)-Cyanhydrin der Formel (I) kann beispielsweise nach Extraktion oder gegebenenfalls nach Abfiltrieren des Enzyms und Abdestillieren des Lösungsmittels ohne weitere Reinigung analog dem Stand der Technik, beispielsweise wie in Angew. Chem. 1994, 106, 1615 oder in Tetrahedron Letters 1990, Vol. 31, No. 9, 1249-1252 beschrieben, mit konzentrierter Salzsäure hydrolysiert werden. Für die Hydrolyse können auch andere geeignete Säuren wie etwa H_2SO_4 verwendet werden, bevorzugt wird jedoch HCl eingesetzt.

[0040] Die so erhaltenen (R)- und (S)- α -Hydroxycarbonsäuren können sodann gegebenenfalls durch Umkristallisation, wie etwa in EP 1 148 042 beschrieben, aufgereinigt werden.

[0041] Die (R)- und (S)- α -Hydroxycarbonsäuren können wiederum durch Umsetzung mit einer Alkyljodidverbindung, beispielsweise mit Methyljodid, in Anwesenheit von Ag-Salzen, wie etwa in Bull. Chem. Soc. Jpn., 1967, 40, 373 - 378 beschrieben, in den korrespondierenden Ether überführt werden.

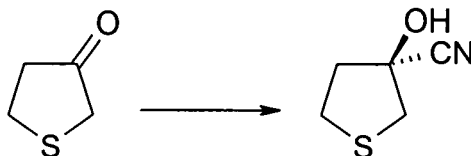
[0042] Die Herstellung von korrespondierenden Amidinen aus Cyanhydrinen der Formel (I) kann beispielsweise durch partielle Hydrolyse mit HBF_4 in CH_2Cl_2 bei 0°C , wie etwa in Tetrahedron Asymmetry, 1997, 8, 3503 - 3511 beschrieben, erfolgen.

[0043] Korrespondierende Ester werden beispielsweise durch Acylierung mit Acetylchlorid und Pyridin in CH_2Cl_2 , wie etwa in Tetrahedron, 1998, 54, 14477 - 14486 beschrieben, hergestellt werden.

[0044] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist demnach die Verwendung der erfindungsgemäß hergestellten (R)- oder (S)-Cyanhydrine der Formel (I) zur Herstellung der korrespondierenden Hydroxycarbonsäuren, Ether, Ester und Amide.

Beispiel 1: Synthese von (S)-3-Cyano-tetrahydrothiophen-3-ol:

[0045]



10,2 g (0,1 mol) 4,5-Dihydro-3(2H)-thiophenon wurden in 35 mL t-Butylmethylether gelöst und auf 0°C gekühlt.

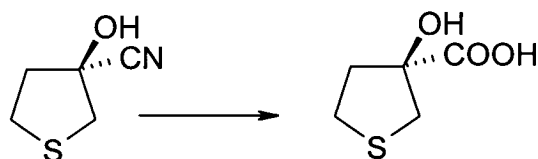
31 mL (S)-HNL von Hevea brasiliensis mit einer Aktivität von 6500 IU/mL wurden mit 24 mL eines 50 mmol K_2HPO_4 /Citrat Puffers mit pH 4,00 gemischt und mit 10 % Citronensäure auf pH 4,50 gestellt. Diese wässrige enzymatische Lösung wurde zur organischen Lösung gegeben und 5 Minuten bei 0°C zu einer Emulsion gerührt. 13,5 g (0,5 mol) HCN wurden daraufhin innerhalb von 40 Minuten der Reaktionslösung unter intensiver Rührung zugegeben. Nach 75 Minuten wurden 100 mL t-Butylmethylether zur Reaktion getropft und weitere 30 Minuten gerührt.

Nach erfolgreicher Phasentrennung wurde die wässrige Phase neuerlich mit 100 mL t-Butylmethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet, abfiltriert und vom Lösungsmittel befreit.

[0047] Ausbeute: 10,26 g gelbes Öl (79,4 % Ausbeute, 91,3 % ee)

Beispiel 2: Synthese von (S)-3-Hydroxy-tetrahydrothiophen-3-carbonsäure:

[0048]



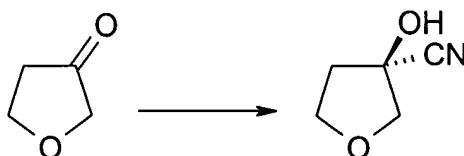
6,0 g (0,046 mol) (S)-3-Cyano tetrahydrothiophen-3-ol, hergestellt nach Beispiel 1, wurden in 15,4 mL konz. HCl suspendiert und auf 70 °C erwärmt. Nach 15 Stunden Rühren bei 70 °C wurde die Lösung abgekühlt, mit wässriger NaOH basisch gestellt und zweimal mit t-Butylmethylether extrahiert. Die gelbe wässrige Phase wurde mit HCl auf pH 1 gestellt und zweimal mit t-Butylmethylether extrahiert. Die vereinigten t-Butylmethylether Phasen wurden mit NaCl Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und vom Lösungsmittel befreit.

Ausbeute: 3,85 g beiger Feststoff (55,9 % Ausbeute, 91,3 % ee)

[0049] Zwecks Bestimmung der Chiralität der Säure wurde das Salz mit (S)-Phenylethylamin hergestellt und die Absolutkonfiguration der Säure durch Röntgenstruktur bestimmt.

Beispiel 3: Synthese von (S)-3-Cyanotetrahydrofuran-3-ol:

[0050]

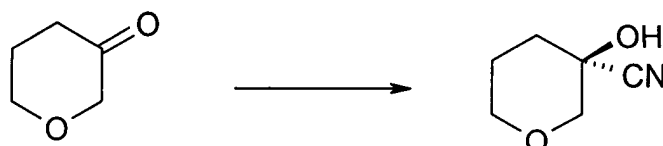


0,52 g (6,05 mmol) 4,5-Dihydro-3(2H)-furanon wurde in 3,5 mL t-Butylmethylether gelöst und auf 0 °C gekühlt. 3,10 mL (R)-HNL von *Prunus amygdalus* mit einer Aktivität von 2100 IU/mL wurden mit 2,4 mL eines 50 mmol K₂HPO₄/Citrat Puffers mit pH 4,00 gemischt und mit 10 % Citronensäure auf pH 4,50 gestellt. Diese wässrige Phase wurde zur organischen Phase chargiert und 5 Minuten bei 0 °C gerührt. Daraufhin wurden 0,76 g (28 mmol) HCN auf einmal hinzugegeben und 1 h lang gerührt. Die Reaktionslösung wurde dreimal mit t-Butylmethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen vom Lösungsmittel befreit.

[0051] Ausbeute: 92 % Umsatz mit 24 % ee, hell gelbes Öl

Beispiel 4: Synthese von (S)-3-Cyanotetrahydropyran-3-ol

[0052]



0,200 g (2 mmol) Tetrahydro-4H-pyran-3-on wurden in 3 mL t-Butylmethylether gelöst und auf 0 °C gekühlt. 0,3 mL (S)-HNL von *Hevea brasiliensis* mit einer Aktivität von 5100 IU/mL wurden mit 3 mL Aqua dest. gemischt und mit 10 % Citronensäure auf pH 4,70 gestellt. Diese wässrige enzymatische Lösung wurde zur organischen Lösung gegeben und 15 Minuten bei 0 °C zu einer Emulsion gerührt. 0,3 mL (8,8 mmol) HCN wurden daraufhin in die Reak-

tionslösung gegeben. Nach 60 Minuten Rühren bei 0 °C wurden 3 mL t-Butylmethylether zur Reaktion hinzugefügt und mit 0,5 g Celite® 545 Wasser und Enzym gebunden. Anschließend wurde über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und vom Lösungsmittel befreit.

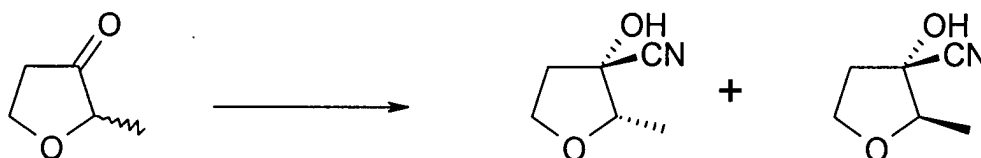
Ausbeute: (98% Umsatz) farbloses Öl an (S)-3-Cyanotetrahydropyran-3-ol mit 44 % ee

[0053] Für analytische Zwecke wurde das Cyanhydrin in das entsprechende Acetat verwandelt und als solches charakterisiert.

44 % ee; ¹H NMR: δ (ppm) 4.05 (d, J = 12.1 Hz, 1H; H-2), 3.51 (d, 1H; H-2'), 3.87-3.61 (m, 2H; H-6, H-6'), 2.38 (m, 1H; H-4), 2.15 (m, 1H; H-4'), 2.13 (s, 3H; Ac-CH₃), 1.85 (m, 2H; H-5, H-5'); ¹³C NMR: δ (ppm), 168.99 (Ac-C=O), 117.39 (CN), 68.93, 68.09 (C-2, C-6), 32.83, 30.52 (C-4, C-5), 22.03 (Ac-CH₃).

Beispiel 5: Umsetzung von rac-2-Methyltetrahydrofuran-3-on

[0054]



0,200 g (2 mmol) 2-Methyltetrahydrofuran-3-on wurden in 3 mL t-Butylmethylether gelöst und auf 0 °C gekühlt.

1,5 mL (S)-HNL von *Hevea brasiliensis* mit einer Aktivität von 5100 IU/mL wurden mit 1,5 mL Aqua dest. verdünnt und mit 10 % Citronensäure auf pH 5,20 gestellt. Diese wässrige enzymatische Lösung wurde zur organischen Lösung gegeben und 15 Minuten bei 0 °C zu einer Emulsion gerührt. 0,3 mL (8,8 mmol) HCN wurden daraufhin in die Reaktionslösung gegeben. Nach 60 Minuten Rühren bei 0 °C wurden 3 mL t-Butylmethylether zur Reaktion hinzugefügt und mit 0,5 g Celite® 545 Wasser und Enzym gebunden. Anschließend wurde über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und vom Lösungsmittel befreit.

Ausbeute: (99% Umsatz) farbloses Öl an 3-Cyano-2-methyltetrahydrofuran-3-ol

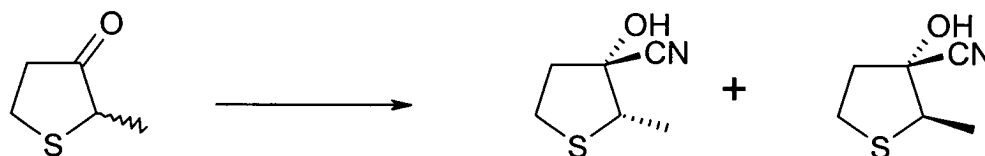
[0055] Für analytische Zwecke wurde das Cyanhydrin in das entsprechende Acetat verwandelt und als solches charakterisiert.

(+)-cis Isomer: 27 % de; ¹H NMR: δ (ppm) 4.13-4.04 (m, 1H; H-5), 4.04 (qu, J = 6.3 Hz, 1H; H-2), 3.85 (ddd, J = 18.0, 8.8, 6.9 Hz 1H; H-5'), 2.71 (ddd, J = 14.0, 8.8, 8.2 Hz 1H; H-4), 2.43 (ddd, J = 14.0, 6.9, 3.5 Hz 1H; H-4'), 2.15 (s, 3H; Ac-CH₃), 1.50 (d, J = 6.3 Hz, 3H; CH₃); ¹³C NMR: δ (ppm), 169.23 (Ac-C=O), 116.35 (CN), 81.98 (C-5), 78.78 (C-3), 65.87 (C-2), 38.86 (C-4), 20.79 (Ac-CH₃), 17.32 (CH₃).

(+)-trans Isomer: 50 % de; ¹H NMR: δ (ppm) 4.13-4.02 (m, 1H; H-5), 4.11 (qu, J = 6.3 Hz, 1H; H-2), 3.88 (ddd, J = 17.6, 8.5, 7.3 Hz 1H; H-5'), 2.78 (ddd, J = 14.6, 8.3, 5.4 Hz 1H; H-4), 2.51 (ddd, J = 14.6, 8.5, 7.3 Hz 1H; H-4'), 2.16 (s, 3H; Ac-CH₃), 1.40 (d, J = 6.3 Hz, 3H; CH₃); ¹³C NMR: δ (ppm), 169.12 (Ac-C=O), 117.05 (CN), 82.09 (C-5), 75.20 (C-3), 65.84 (C-2), 38.70 (C-4), 20.70 (Ac-CH₃), 13.32 (CH₃).

Beispiel 6: Umsetzung von rac-2-Methyltetrahydrothiophen-3-on

[0056]



0,232 g (2 mmol) 2-Methyltetrahydrothiophen-3-on wurden in 3 mL t-Butylmethylether gelöst und auf 0 °C gekühlt.

1 mL (S)-HNL von *Hevea brasiliensis* mit einer Aktivität von 5100 IU/mL wurden mit 2 mL Aqua dest. verdünnt und mit 10 % Citronensäure auf pH 4,40 gestellt. Diese wässrige enzymatische Lösung wurde zur organischen Lösung gegeben.

ben und 15 Minuten bei 0 °C zu einer Emulsion gerührt. 0,3 mL (8,8 mmol) HCN wurden daraufhin in die Reaktionslösung gegeben. Nach 60 Minuten Rühren bei 0 °C wurden 3 mL t-Butylmethylether zur Reaktion hinzugefügt und mit 0,5 g Celite® 545 Wasser und Enzym gebunden. Anschließend wurde über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und vom Lösungsmittel befreit.

Ausbeute: (90% Umsatz) gelbes Öl an 3-Cyano-2-methyltetrahydrothiophen-3-ol

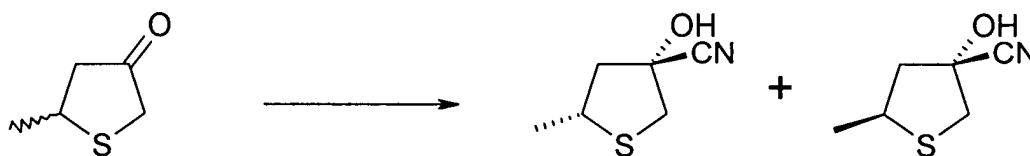
[0057] Für analytische Zwecke wurde das Cyanhydrin in das entsprechende Acetat überführt und als solches charakterisiert.

(+)-cis Isomer: 10 % de; ¹H NMR: δ (ppm) 3.65 (qu, J = 6.9 Hz, 1H; H-2), 3.12-2.70 (m, 3H; H-4, H-5, H-5'), 2.58-2.37 (m, 1H; H-4'), 2.10 (s, 3H; Ac-CH₃), 1.47 (d, J = 6.9 Hz, 3H; CH₃); ¹³C NMR: δ (ppm), 169.02 (Ac-C=O), 115.54 (CN), 81.38 (C-3), 48.06 (C-2), 38.70 (C-4), 26.95 (C-5), 20.98 (Ac-CH₃), 19.48 (CH₃).

(+)-trans Isomer: 10 % de; ¹H NMR: δ (ppm) 3.85 (qu, J = 6.9 Hz, 1H; H-2), 3.12-2.70 (m, 3H; H-4, H-5, H-5'), 2.58-2.37 (m, 1H; H-4'), 2.14 (s, 3H; Ac-CH₃), 1.34 (d, J = 6.9 Hz, 3H; CH₃); ¹³C NMR: δ (ppm), 168.97 (Ac-C=O), 117.00 (CN), 78.48 (C-3), 48.74 (C-2), 38.66 (C-4), 26.34 (C-5), 20.88 (Ac-CH₃), 15.62 (CH₃).

Beispiel 7: Umsetzung von rac-5-Methyltetrahydrothiophen-3-on

[0058]



0,232 g (2 mmol) 2-Methyltetrahydrothiophen-3-on wurden in 3 mL t-Butylmethylether gelöst und auf 0 °C gekühlt.

3 mL (R)-HNL von Prunus amygdalus mit einer Aktivität von 250 IU/mL wurden mit 10 % Citronensäure auf pH 4,30 eingestellt. Diese wässrige enzymatische Lösung wurde zur organischen Lösung gegeben und 15 Minuten bei 0 °C zu einer Emulsion gerührt. 0,3 mL (8,8 mmol) HCN wurden daraufhin in die Reaktionslösung gegeben. Nach 60 Minuten Rühren bei 0 °C wurden 3 mL t-Butylmethylether zur Reaktion hinzugefügt und mit 0,5 g Celite® 545 Wasser und Enzym gebunden. Anschließend wurde über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und vom Lösungsmittel befreit.

Ausbeute: (95% Umsatz) gelbes Öl an 3-Cyano-5-methyltetrahydrothiophen-3-ol

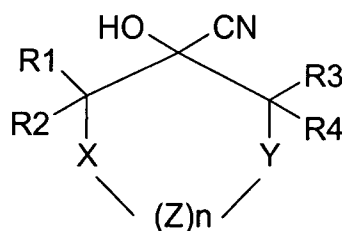
[0059] Für analytische Zwecke wurde das Cyanhydrin in das entsprechende Acetat überführt und als solches charakterisiert.

(-)-cis Isomer: 86 % de; ¹H NMR: δ (ppm) 3.77-33.6 (m, 3H; H-5, H-2, H-2'), 2.81 (dd, J = 13.2, 6.6 Hz, 1H; H-4), 2.11 (m, 1H; H-4') 2.13 (s, 3H; Ac-CH₃), 1.41 (d, J = 6.8 Hz, 3H; CH₃); ¹³C NMR: δ (ppm), 168.97 (Ac-C=O), 117.02 (CN), 76.67 (C-3), 49.35 (C-2), 41.24 (C-4), 38.51 (C-5), 22.00 (Ac-CH₃), 20.63 (CH₃).

(-)-trans Isomer: 95 % de; ¹H NMR: δ (ppm) 3.70 (m, 1H; H-5), 3.62 (d, J = 11.9 Hz, 1H; H-2), 3.28 (d, J = 11.9 Hz, 1H; H-2'), 2.88 (dd, J = 13.2, 6.6 Hz, 1H; H-4), 2.12 (dd, J = 13.2 Hz, 1H; H-4') 2.13 (s, 3H; Ac-CH₃), 1.40 (d, J = 6.8 Hz, 3H; CH₃); ¹³C NMR: δ (ppm), 168.99 (Ac-C=O), 117.47 (CN), 77.41 (C-3), 48.47 (C-2), 40.54 (C-4), 38.51 (C-5), 21.99 (Ac-CH₃), 20.89 (CH₃).

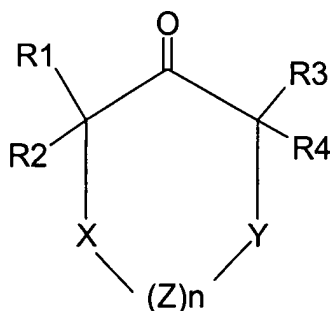
Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von enantiomerenangereicherten heterocyclischen (R)-und (S)-Cyanhydrinen der Formel (I),



in der R1, R2, R3, R4 unabhängig voneinander H, einen gegebenenfalls ein- oder mehrfach durch unter den

Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituierten, linearen, verzweigten oder cyclischen C₁-C₂₄-Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylrest, wobei ein oder mehrere C-Atome in der Kette durch ein Sauerstoffatom, ein Stickstoffatom, ein Schwefelatom, eine SO- oder eine SO₂-Gruppe ersetzt sein können, einen gegebenenfalls ein- oder mehrfach durch unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituierten Aryl- oder Heteroarylrest oder heterocyclischen Rest oder Halogen, Hydroxy, NR₅R₆, Acetyl, Oxo, C₁-C₆-Carbalkoxy, C₁-C₆-Carbalkoxyamino, COOR₇, Cyano, Amid, Benzoylamino oder NO₂ bedeuten, R₅ und R₆ unabhängig voneinander H, linearer, verzweigter oder cyclischer C₁-C₆-Alkylrest, Phenylrest, Benzylrest, COOR₇ sein können oder gemeinsam einen C₂-C₈-Alkyl- oder-Heteroalkylrest bilden, R₇ gleich H oder C₁-C₆-Alkyl bedeutet, X und Y unabhängig voneinander ein gegebenenfalls ein- oder zweifach durch unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituiertes C-Atom oder ein Rest aus der Gruppe N, O, S, oder NR₅R₆, wobei R₅ und R₆ wie oben definiert sind, SO oder SO₂ sein kann, n gleich 0, 1, 2 oder 3 ist, Z ein gegebenenfalls ein- oder zweifach durch unter den Reaktionsbedingungen inerte Substituenten substituiertes C-Atom, oder ein Rest aus der Gruppe N, O, S, oder NR₅R₆, wobei R₅ und R₆ wie oben definiert sind, SO oder SO₂ sein kann, und mindestens einer der Reste X, Y und Z kein C-Atom ist, wobei die Verbindungen der Formel (I), in Abhängigkeit von der Ringgröße, eine oder mehrere Doppelbindungen im Ring aufweisen können, mit der Maßgabe, dass im 5-er Ring die Doppelbindung nicht in Konjugation zur -C(OH)CN-Gruppe steht, und/oder ein- oder mehrfach durch 5-er, 6-er oder 7-er Ringe mit 0 bis 3 Heteroatomen anelliert, und/oder durch einen linearen oder verzweigten C₁-C₆-Alkylrest, der in der Alkylkette durch ein oder mehrere Heteroatome unterbrochen sein kann und/oder eine Doppelbindung aufweisen kann, überbrückt sein können, **dadurch gekennzeichnet, dass** Ketone der Formel (II),



in der R₁, R₂, R₃, R₄, X, Y, Z und n obige Bedeutung haben, in Gegenwart eines Cyanidgruppendonors mit einer (R)- oder (S)-Hydroxynitrilase im organischen, wässrigen oder Zweiphasensystem oder in Emulsion zu den gewünschten (R)- und (S)-Cyanhydrinen umgesetzt werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** Ketone der Formel (II) als Edukte eingesetzt werden, in der R₁, R₂, R₃ und R₄ unabhängig voneinander H, einen gesättigten oder einfach ungesättigten, linearen, verzweigten oder cyclischen C₁-C₁₂-Alkylrest, in der ein C-Atom in der Kette durch ein Sauerstoffatom, ein Stickstoffatom oder ein Schwefelatom ersetzt sein kann, einen Phenyl, Biphenyl oder Naphthylrest bedeuten, wobei die Reste durch einen oder mehreren Substituenten aus der Gruppe C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₆-Alkoxy, C₁-C₁₂-Alkylalkoxy, C₁-C₂₀-Aryloxy, Halogen, Hydroxy, Oxo, Carboxyl, gegebenenfalls ein- oder zweifach durch Halogen, Hydroxy, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy substituiertes Phenyl substituiert sein können, oder Halogen, Hydroxy, Oxo, C₁-C₆-Carbalkoxy, C₁-C₆-Carbalkoxyamino, NR₅R₆, Acetyl, COOR₇, Cyano, Amid, Benzoylamino oder NO₂ bedeuten, R₅ und R₆ unabhängig voneinander H oder einen linearen, cyclischen oder verzweigten C₁-C₆-Alkylrest sein können oder gemeinsam einen C₂-C₈-Alkylrest bilden, R₇ gleich H oder C₁-C₆-Alkyl bedeutet, n gleich 0, 1 oder 2 ist, X, Y und Z unabhängig voneinander ein gegebenenfalls ein- oder zweifach durch C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₆-Alkoxy, C₁-C₁₂-Alkylalkoxy, C₁-C₂₀-Aryloxy Halogen, Hydroxy, Oxo, Carboxyl, gegebenenfalls ein- oder zweifach durch

Halogen, Hydroxy, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy substituiertes Phenyl substituiertes C-Atom, oder einen Rest aus der Gruppe N, O, S oder NR₅R₆, bedeuten, wobei einer oder zwei der Reste X, Y oder Z kein C-Atom ist, wobei die Ketone der Formel (II) bei n = 0 keine Doppelbindung, bei n = 1 keine oder eine Doppelbindung und bei n = 2 keine bis zu zwei Doppelbindungen enthalten und/oder gegebenenfalls durch einen 5-er oder 6-er Ring mit 0 bis 1 Heteroatomen anelliert sind, und/oder durch einen linearen oder verzweigten C₁-C₆-Alkylrest, der gegebenenfalls eine Doppelbindung aufweist, überbrückt sein können.

3. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** als organisches Verdünnungsmittel für die Reaktion im organischen System mit Wasser nicht oder geringfügig mischbare aliphatische oder aromatische Kohlenwasserstoffe, die gegebenenfalls halogeniert sind, Alkohole, Ether oder Ester oder Gemische eingesetzt werden.

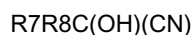
4. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Umsetzung in Emulsion erfolgt.

5. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die enantioselektive Umsetzung im wässrigen System durchgeführt wird, wobei eine die entsprechende Hydroxynitrilase enthaltende Lösung oder Acetatpuffer-, Boratpuffer-, Phthalatpuffer-, Citratpuffer- oder Phosphatpufferlösung oder Gemische dieser Pufferlösungen Reaktionsmedium dient.

6. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** als Hydroxynitrilase native oder rekombinante (R)- und (S)-Hydroxynitrilasen eingesetzt werden, die entweder als solche oder immobilisiert vorliegen.

7. Verfahren nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** als Hydroxynitrilase native (S)-Hydroxynitrilasen aus Maniok und Hevea brasiliensis, rekombinante (S)-Hydroxynitrilase aus gentechnisch modifizierten Mikroorganismen aus der Gruppe Pichia pastoris, E. coli oder Saccharomyces cerevisiae, native (R)-Hydroxynitrilasen aus Prunus amygdalus, Prunus laurocerasus oder Prunus serotina oder rekombinante (R)-Hydroxynitrilasen eingesetzt werden.

8. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** als Cyanidgruppendonor Blausäure, Alkalicyanide oder Cyanhydrine der allgemeinen Formel (III),



in der R₇ und R₈ unabhängig voneinander Wasserstoff oder eine unsubstituierte Kohlenwasserstoffgruppe bedeuten, oder R₇ und R₈ gemeinsam eine Alkylengruppe mit 4 oder 5 C-Atomen, wobei R₇ und R₈ nicht gleichzeitig Wasserstoff bedeuten, bilden.

9. Verwendung von (R)- oder (S)-Cyanhydrinen der Formel (I) zur Herstellung der korrespondierenden Hydroxycarbonsäuren, Ether, Ester oder Amide.